Über den Nachweis der Bindung der Praecipitine im Tierkörper.

Inaugural-Dissertation

verfasst und der
hohen medizinischen Fakultät
der
Kgl. Bayer. Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der Doktorwürde
vorgelegt von

Wilhelm Többen
aus
Herzlake (Hannover).

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Würzburg
Paul Scheiner's Buchdruckerei (Dominikanergasse 6)
1904.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg.

Referent: Herr Geh.-Rat Prof. Dr. v. LEUBE.

Meinen

LIEBEN ELTERN

in Dankbarkeit

gewidmet.

Ueber den Nachweis der Bindung der Praecipitine im Tierkörper.

Unter Immunität verstehen wir die wunderbare Fähigkeit des tierischen Organismus, nach Eindringen von Bakterien, bakteriellen, pflanzlichen und tierischen Giften, Stoffe zu bilden, die mit den eingeführten Giften Verbindungen eingehen und specifisch auf sie einwirken. Diese reactive Bildung von Antikörpern kommt aber auch zustande nach Einführung scheinbar indifferenter, nicht toxischer Stoffe in den Organismus. So ruft die Einverleibung körper- und art-fremden Eiweissmaterials eine Reaction hervor, deren Mechanismus, im Lichte der Ehrlich'schen Seitenkettentheorie betrachtet, der Bildung von Antitoxinen sehr ähnlich erscheint *(Michaelis* und *Oppenheimer)*. Die Reaction kommt aber nur zustande, wenn das körperfremde Eiweiss direkt in die Blutbahn gelangt und nicht dem verdauenden Einfluss des Gastrointestinalkanals ausgesetzt wird. Denn nach *Hamburger* stellt der Verdauungsapparat ein Schutzorgan dar, das den Organismus vor dem Eindringen körper- und art-fremden Substanzen schützt. Die specifischen Zellen des Verdauungskanals haben eine lebhafte Affinität zu den Nahrungstoffen. Mit Hilfe ihrer Sekrete zerlegen sie das grosse Eiweissmolekül in relativ einfache Stickstoffverbindungen, in kleinere Atomkomplexe, die dann wieder von den Verdauungszellen selbst, oder von sonstigen, uns noch unbekannten Faktoren durch

Änderung der Lagerung und Zusammensetzung der einzelnen Atomkomplexe zu echten Eiweisskörpern aufgebaut werden, die dieselbe Konstitution der übrigen Eiweissmoleküle des Organismus besitzen, d. h. dem Körper arteigen sind. Wird nun dieser schützende Einfluss des Verdauungstractus eliminiert, und dringen körper- und artfremde Eiweisstoffe direkt in die Blutbahn ein, ohne die Verdauungszellen zu passieren, so ist damit ein Reiz gesetzt. Denn die Körperzellen, die im Laufe der Entwicklung phylogenetisch und antogenetisch gewohnt sind, in der Umgebung von Stoffen zu leben, die ihnen arteigen sind, werden dann von fremdartigen Stickstoffverbindungen umgeben, welche das Leben der Zellen gefährden. Wie sich nun der Körper beim Eindringen bakterieller, tierischer und pflanzlicher Noxen zu panzern weiss durch Bildung specifischer Antikörper, die mit den schädlichen Eindringlingen Verbindungen eingehen, sie von den Körperzellen fernhalten, sodass ihnen die Möglichkeit genommen ist, schädigend und krankheiterregend auf die Körperzellen einzuwirken, so schützt er sich auch gegen die Gefährdung der „birchemischen Intregrität der Zellen“ *(Hamburger)* bei Anwesenheit körperfremden Eiweissmaterials in seinem Innern durch Bildung spezifisch wirkender Antikörper, der Praecipitine, die, so müssen wir teleologisch annehmen, sich mit dem artfremden Eiweiss verankern, ihnen ihre Fremdartigkeit rauben, sie unschädlich machen. Analog dem Verhalten der Antitoxine ist nach der *Ehrlich*'schen Theorie anzunehmen, dass die Praecipitine dadurch entstehen, dass gewisse Atomgruppen des grossen Eiweissmoleküls (Seitenketten, haptophore Gruppe) in reichlicherer Menge produciert und vom Protoplasma abgestossen werden und dann frei als Praecipitine in der Blutbahn kreisen. Durch Bildung dieser Stoffe ist dann das betreffende Tier immun gegen dasjenige artfremde Eiweiss geworden, welches die Praecipitinreaction durch seine Anwesenheit im Tierkörper wachgerufen hat.

Die Praecipitinreaction lässt sich sehr schön im Reagenz-Glas beobachten. Hat man ein Tier durch mehrfache Injektion von Eiweiss, z. B. Eiereiweiss immunisiert und untersucht dann einige ccm Blut, indem man einige Tropfen des gewonnenen und klar centrifugierten Serums etwa 2 ccm einer 1—2% Eiereiweisslösung zusetzt und im Brutofen bei Körpertemperatur beobachtet, so tritt allmählich eine Trübung der vorher klaren Flüssigkeit auf; dann scheiden sich flockige Substanzen aus, die sich weiterhin als grauweisser Niederschlag zu Boden senken. Diese Fällung wird dadurch verursacht, dass sich die ausschliesslich auf einander eingestellten, specifischen Atomkomplexe des Immunserums und der Eiweisslösung vereinigen, wodurch eine unlösliche Verbindung entstanden ist.

Es fragt sich nun ob die Bindung der Praecipitine mit dem Eiweiss und die Praecipitatbildung in vitro und im Organismus die gleiche ist. *Rostoski* wies nach, dass man Tieren, die mit Eiweiss immunisiert sind, eine grosse Dosis des Eiweiss intravenös injicieren kann, das zur Immunisierung verwendet wurde, ohne dass die Tiere dadurch Schaden erleiden. Auch bei meinen untenstehenden Versuchen wurden mehrfach Kaninchen, die mit Pferdealbumin-globulin immunisiert waren, Injectionen von 10 ccm Albumin ev. Globulin direkt in die vena jugularis gemacht. Sämtliche Tiere blieben gesund und boten nie Erscheinungen von Embolien, die man doch bei starker Praecipitatbildung erwarten müsste. Es kann also im Tierkörper keine, oder doch wenigstens keine schädigende Praecipitatbildung stattfinden. Diese Hemmung der Praecipitatbildung im Organismus führt *Rostoski* auf die ziemlich starke alkalische Reaction des Blutes, die starke Concentration des Eiweiss im Blut (7 %) und endlich auf ein Antipraecipitin, das vielleicht an das Globulin gebunden ist, zurück.

Dass aber eine Bindung des Praecipitins mit dem Eiweiss im Tierkörper zustande kommt, suchten *Hamburger* und *Oppenheimer* nachzuweisen. *Ascoli* stellte fest, dass

nach grossen Eiweisgaben per os ein Teil des eingeführten Eiweiss unverändert durch die Darmwand ins Blut gelange infolge Insuffienz des Verdauungstractus bei Nahrungsüberschwemmung. Diese Eiweisstoffe im Blute wies er mit Hilfe der Praecipitine nach. Gleichfalls konstatierte er, dass bei Nephitis Eiereiweiss die Niere viel eher passierte als unter normalen Umständen; ferner, dass bei einer alimentären Albuminerie, durch grosse Gaben rohen Eiereiweiss bedingt, sowohl Eiereiweiss als Serumeiweis im Urin nachweisbar sei. Es wird also durch das Auftreten artfremden Eiweisses im Blut eine Schwächung des Nierenfilters gesetzt, die zu einer leichten, vorübergehenden Albuminurie führt. Wenn nun ein Tier gegen Eiereiweiss immunsiert ist und einen bestimmten Eiweissgehalt im Urin aufweist, so könnte, falls eine Bindung des Praecipitins mit Eiweiss im Blut erfolgt, nach einer nun folgenden neuen Injection von Eiereiweiss der Eiweissgehalt des Urins geringer werden. Von diesem Gedanken ging *Hamburger* aus, sei es nun, dass das durch die Bindung des Praecipitins und des Eiweiss neuentstandene Molekül zu gross geworden, um das Nierenfilter passieren zu können, sei es, dass auf irgend einem anderen Wege durch das Praecipitin eine Modifikation des körperfremden Eiweissmoleküls geschaffen sei, infolge deren das Bestreben des Organismus, das Eiweiss durch die Niere zu eliminieren, aufgehört hat. *Hamburger* fand an seinem Versuchskaninchen, dass die nach der ersten Injection auftretende Eiweissauscheidung sich bei den folgenden, in Zwischenräumen von 8—10 Tagen wiederholten Injectionen, allmählich verminderte und nach der dritten bis sechsten Injection verschwunden war.

Injectionen geringer Mengen schützten auch gegen grössere Dosen, die dann völlig zurückbehalten wurden.

Oppenheimer konnte aber *Hamburgers* Versuche nicht vollinhaltlich bestätigen. Nach seinen Erfahrungen ist die Eiereiweissretention bei immunisierten Tieren viel zu

schwankend, um daraus Schlüsse ziehen zu können. Ausserdem beobachtete er einmal, dass ein mit Pferdeserum vorbehandeltes Kaninchen keine Eiereiweisausscheidung durch die Niere zeigte. Hier hat, so nimmt *Oppenheimer* an, die erlangte Resistenz gegen Eiereiweiss wohl kaum etwas mit der spezifischen Praecipitinbildung zu tun.

Es ist also bis jetzt noch nicht gelungen, einen sicheren Nachweis für die Bindung der Praecipitine im Blute zu führen. Ein einfacher Versuch überzeugte mich sehr bald von dieser Tatsache. Injiciert man einem eiweissimmunen Kaninchen den zu seiner Immunisierung verwendeten Eiweiskörper, entnimmt nun Blut, lässt das Serum absetzen und versetzt nun physiologische Kochsalzlösung mit einigen Tropfen Serums, so bekommt man eine Praecipitinreaction, während man selbstverständlich beim normalen Serum dieses Verhalten nicht beobachtet. Ich konnte mich hiervon sofort und mehrere Tage nach einer Eiweissinjection überzeugen. Dieser Versuch kann nur so erklärt werden, dass Praecipitin und entsprechender Eiweisskörper im Blutserum vorhanden und aneinander gebunden werden. Die starke Concentration der Eiweisslösung, wie ja auch das Blutserum eine ist, hindert aber das Zustandekommen eines Praecipitates. Wie erwähnt hat *Rostoski* zuerst darauf hingewiesen, dass in concentrirter Eiweisslösung eine Hemmung der Praecipitatbildung erfolgt. Später sind diese Angaben von *Michaelis* bestätigt. Zum Beweise der tatsächlich im Blut erfolgenden Bindung der Praecipitine mit den Eiweisskörpern wurde von mir ferner folgender Weg eingeschlagen. Hat man ein Tier gegen Eiweiss immunisiert, erkennbar an deutlicher Praecipitinreaction, injiciert dann demselben Tiere wieder dieselbe Eiweisslösung, die zur Immunisation verwendet wurde, so könnte man beim Vergleich der praecipitierenden Kraft des Serums vor und nach der erneuten Injection erwarten, dass, falls eine Bindung im Tierkörper erfolgt, die Praecipitinreaction nach der Injection schwächer sei, als vor der Injection: auch wird zu ver-

muten sein, dass allmählig die Reaction wieder dieselbe Intensität erreicht, wie sie vor der Injection bestand, oder noch übertrifft, indem der Körper durch den Gehalt an körperfremder Substanz im Blut von neuem angespornt wird, Schutzstoffe, d. h. Praecipitine, zu bilden.

Zu diesen Versuchen wurden 5 Kaninchen verwendet. Von diesen wurden 2 mit 1 ½ % Pferdealbuminlösung, 2 andere mit 11 % Pferdeglobulinlösung und das fünfte mit Eiereiweisslösung, immuniciert.

Versuch mit Albuminkaninchen I.

Am 23. III. 04. Intraperitoneale Injection von 5 ccm Albumin.

„ 26. III. 04.	Injection	von	8	ccm	Albumin.
„ 28. III. 04.	„	„	8	„	„
„ 30. III. 04.	„	„	8	„	„
„ 1. IV. 04.	„	„	10	„	„
„ 5. IV. 04.	„	„	10	„	„
„ 7. IV. 04.	„	„	10	„	„
„ 9. IV. 04.	„	„	10	„	„

Nach 8 Tagen erfolgt eine Blutentnahme aus der Ohrvene (circa 3 ccm). Das klare Serum wird in Dosen von 1—3—5, ev. 3—5—7 Tropfen zu je 2 ccm einer auf 1 : 10 mit physiolog. Nalllösung verdünnten 1 ½ % Albuminlösung zugesetzt. Beobachtung bei Körpertemperatur.

Der Übersicht halber sind folgende Abkürzungen in den Tabellen angewandt:

Tr. = Trübung.
l. Tr. = leichte Trübung.
s. l. Tr. = sehr leichte Trübung.
st. Tr. = starke Trübung.
Flock. = Flocken.
Bdstz. = Bodensatz.
l. Bdstz. = leichter Bodensatz.
st. Bdstz. = starker Bodensatz.
s. st. Bdstz. = sehr starker Bodensatz.
Tropf. = Tropfen.

Natürlich ist nach dem Oben Ausgeführten zu erwarten, dass ein Teil des Praecipitates, welches mit dem nach der Injection gewonnenen Serums in der verdünnten Eiweisslösung erzeugt wird, dadurch entsteht, dass die Eiweisslösung, welche das Serum darstellt, verdünnt wird. Der andere Teil des Praecipitates wird erst durch Bindung von noch freien Praecipitins an das neu zugefügte Eiweiss entstehen. Dasselbe gilt ebenso von diesen, wie auch von allen anderen Versuchen.

Tabelle 1.

Blutentnahme vor der Injection.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	17 Stunden
1	0	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	geringer Bdstz.
3	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	Flock.	st. Bdstz.
5	Tr.	st. Tr.	Flock.	Bdstz.	

Nach dieser Blutentnahme wird eine intraperitoneale Injection von 10 ccm Albuminlösung gemacht. 3 Stunden und 5 Stunden nachher wird wieder Blut aus der Ohrvene entnommen und das Serum untersucht.

Tabelle 2.

Blutentnahme 2 Stunden nach der Injection von 10 ccm Albuminlösung.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	18 Stunden
1	0	0	0	0	Tr.
3	0	0	0	l. Tr.	st. Tr.
5	0	l. Tr.	st. Tr.	Flock.	l. Bdstz.

Tabelle 3.

Blutentnahme 5 Stunden nach der Injection von 10 ccm Albumin.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	18 Stunden
1	0	0	0	s. l. Tr.	Tr.
3	0	l. Tr.	l. Tr.	st. Tr.	l. Bdstz.
5	l. Tr.	st. Tr.	st. Tr.	Flock.	Bdstz.

Tabelle 2 zeigt eine starke Abnahme der Reaction. Bei Tabelle 3 ist schon wieder eine Zunahme zu verzeichnen. Jedoch ist die ursprüngliche Intensität (Tabelle 1) noch nicht erreicht. Naturgemäss können die Tabellen mehr den zeitlichen Ablauf als den quantitativen Ausfall der Reaction berücksichtigen. Bei den Versuchen selbst war aber auch der schliesslich resultierende quantitative Ausfall der Reaction ausserordentlich verschieden, sodass man an der schwachen Reaction nach der Eiweissinjection absolut nicht zweifeln konnte.

Um nun zu sehen in welcher Zeit die Praecipitinreaction nach der Injection von 10 ccm Albumin in die Peritonealhöhle dieselbe Intensität erreicht, wie sie vor der Injection bestanden, oder darüber hinaus geht, wurde ein erneuter Versuch mit demselben Kaninchen angestellt. Es wurde wieder Blut entnommen; (etwa acht Tage nach dem ersten Versuch) dann 10 ccm Albumin intraperitoneal injiciert, darauf Blutentnahme nach 3, 15, 24, 44 und 70 Stunden. Untersuchung der Blutproben.

Tabelle 1.

Blutentnahme vor der Injection.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	18 Stunden
3	0	l. Tr.	l. Tr.	l. Tr.	l. Bdstz.
5	l. Tr.	Tr.	Tr.	st. Tr.	Bdstz.
7	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	st. Tr.	st. Bdstz.

Wegen der relativ geringen Reaction werden bei allen diesen Versuchen 3—5—7 Tropfen Serum verwandt.

Tabelle 2.

Blutentnahme 3 Stunden nach der Injection.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	16 Stunden
3	0	0	0	0	l. Tr.
5	0	0	0	l. Tr.	Tr.
7	0	0	l. Tr.	l. Tr.	leichte Flockenbildung

Tabelle 3.

Blutentnahme 15 Stunden nach der Injektion.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	16 Stunden	
3	0	0	0	l. Tr.	st. Tr.	
5	0	l. Tr.	Tr.	Tr.	st. Tr.	
7	l. Tr.	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	l. Bdstz.	

Tabelle 4.

Blutentnahme 24 Stunden nach der Injection.

		Beobachtungszeit.			
Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	14 Stunden
3	0	l. Tr.	l. Tr.	l. Tr.	l. Bdstz.
5	l. Tr.	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	l. Bdstz.
7	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	st. Tr.	Bdstz.

Tabelle 5.

Blutentnahme 48 Stunden nach der Injection.

		Beobachtungszeit.			
Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	16 Stunden
3	0	l. Tr.	l. Tr.	st. Tr.	l. Bdstz.
5	l. Tr.	l. Tr.	st. Tr.	st. Tr.	Bdstz.
7	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	Bdstz.	st. Bdstz.

Tabelle 6.

Blutentnahme 70 Stunden nach der Injection.

		Beobachtungszeit.			
Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	15 Stunden
3	0	l. Tr.	Tr.	Tr.	Tr.
5	l. Tr.	Tr.	Tr.	st. Tr.	Flock.
7	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	Flock.	Bdstz.

Das Resultat dieses Versuches ist ein unzweideutiges. 3 Stunden nach der Injection ist die praecipitierende Kraft des Serums bedeutend herabgesetzt. Während das Serum, gewonnen aus der Blutprobe vor der Injection, schon bei Verwendung von drei Tropfen nach 2 Stunden eine leichte Trübung, nach 18 Stunden der Beobachtung einen leichten Bodensatz verursacht hat und bei Verwendung von 5 und 7 Tropfen nach 2 Stunden eine starke Trübung, nach 18 Stunden ein Bodensatz und starker Bodensatz erkennbar ist, ist bei dem Serum, das aus dem 3 Stunden nach der Injection entnommenen Blute gewonnen ist, bei Verwendung von 3 Tropfen erst nach 16 Stunden eine leichte Trübung, bei 5 und 7 Tropfen nach 2 Stunden eine leichte Trübung, nach 16 Stunden Beobachtungszeit nur eine Trübung bei Verwendung von 5 Tropfen, eine leichte Flockenbildung bei 7 Tropfen eingetreten. Tabelle 3 zeigt eine Zunahme der Reaction gegenüber Tabelle 2.

Tabelle 4 hat beinahe dieselbe Intensität der Praecipitinreaction aufzuweisen wie Tabelle 1.

In Tabelle 5 sind dieselben Werte hinsichtlich der Stärke den Praecipitinreaktion wie in Tabelle 1 erreicht, und zum Teil überholt. In Tabelle 6 ist schon wieder eine leichte Abnahme der Reaction erfolgt.

Versuch mit Globulinkaninchen I.

Das Versuchstier wurde durch intraperitoneale Injectionen von 11 % Globulinlösung immunisiert.

23. III. 04.	Injection	von	5	ccm	Globulin.
26. III. 04.	"	"	8	"	"
28. III. 04.	"	"	8	"	"
30. III. 04.	"	"	8	"	"
1. IV. 04.	"	"	10	"	"
5. IV. 04.	"	"	10	"	"
7. IV. 04.	"	"	10	"	"
9. IV. 04.	"	"	10	"	"

Nach Verlauf einer Woche erfolgte die Blutentnahme aus der Ohrvene. Das erhaltene, klar centrifugierte Serum

wird in Dosen von 1—3—5—7 Tropfen zu je 2 ccm einer auf 1 : 50 mit physiolog. Na Cl-Lösung verdünnten 11 % Globulinlösung zugesetzt.

Tabelle 1.

Blutentnahme vor der Injection.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	½ Stunde	1 Stunde	2 Stunden	16 Stunden
1	l. Tr.	Tr.	Tr.	st. Tr.	Flocken
3	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	Flock.	Bdstz.
5	Tr.	st. Tr.	Flock.	Bdstz.	st. Bdstz.

Nach der Blutentnahme werden 10 ccm Globulin injiciert. Nach 3 und 5 Stunden Blutentnahme aus der Ohrvene.

Tabelle 2.

Blutentnahme 3 Stunden nach der Injection.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	½ Stunde	1 Stunde	2 Stunden	16 Stunden
1	0	0	l. Tr.	l. Tr.	l. Tr.
3	0	l. Tr.	Tr.	Tr.	st. Tr.
5	0	Tr.	st. Tr.	st. Tr.	l. Bdstz.

Tabelle 3.

Blutentnahme 5 Stunden nach der Injection.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	15 Stunden
1	0	l. Tr.	l. Tr.	l. Tr.	l. Tr.
3	l. Tr.	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	st. Tr.
5	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	st. Tr.	l. Bdstz.

Wie aus Tabelle 2 ersichtlich ist eine ganz bedeutende Abschwächung der praecipidierenden Kraft des Serums 2 Stunden nach der Injection eingetreten. Das Serum des 5 Stunden nach der Injection entnommenen Blutes zeigt kaum eine stärkere Reaction als das in Tabelle 2 verwandte.

Analog dem Albuminversuch wurde auch hier ein erneuter Versuch mit demselben Globulinkaninchen gemacht zwecks Ermittlung des Zeitpunktes, in dem die Intensität der Praecipitinreaction wie der gleich der ursprünglichen Stärke vor der Injection, eventuell noch stärker geworden ist. Nach circa 8 Tagen erneuerter Versuch. Blutentnahme vor der Injection, dann Injection von 10 ccm Globulin. Blutentnahme nach 3, 17, 24, 40 und 76 Stunden.

Tabelle 1.

Blutentnahme vor der Injection.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	17 Stunden
3	0	l. Tr.	Tr.	Tr.	l. Bdstz.
5	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	st. Tr.	Bdstz.
7	l. Tr.	st. Tr.	st. Tr.	st. Tr.	st. Bdstz.

Tabelle 2.

Blutentnahme 3 Stunden nach der Injection.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	17 Stunden
3	0	0	0	0	l. Tr.
5	0	0	l. Tr.	l. Tr.	Tr.
7	0	l. Tr.	Tr.	Tr.	st. Tr.

Tabelle 3.

Blutentnahme 17 Stunden nach der Injection.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	16 Stunden
3	0	0	l. Tr.	l. Tr.	l. Tr.
5	0	l. Tr.	l. Tr.	Tr.	st. Tr.
7	0	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	st. Tr.

Tabelle 4.

Blutentnahme 24 Stunden nach der Injection.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	15 Stunden
3	l. Tr.	Tr.	Tr.	st. Tr.	l. Bdstz.
5	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	Flock.	Bdstz.
7	l. Tr.	st. Tr.	st. Tr.	Flock. u. l. Bdstz.	st. Bdstz.

Tabelle 5.

Blutentnahme 40 Stunden nach der Injection.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	18 Stunden
3	0	l. Tr.	l. Tr.	Tr.	st. Tr.
5	0	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	Bdstz.
7	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	st. Tr.	st. Bdstz.

Tabelle 6.

Blutentnahme 76 Stunden nach der Injection.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	17 Stunden
3	0	l. Tr.	l. Tr.	Tr.	Ueberall leichter Bodensatz, der sich an den Wänden des Reagenzglases abgesetzt hat.
5	l. Tr.	Tr.	Tr.	st. Tr.	
7	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	st. Tr.	

Dieser Versuch ist ebenso beweisend wie der Albuminversuch. Das Serum des 3 Stunden nach der Injection von 10 ccm Globulin entnommenen Blutes hat an praecipitierender Kraft bedeutend verloren gegenüber dem Serum, welches in Tabelle 1 verwandt wurde.

Nach 17 Stunden ist eine Zunahme der praecipitierenden Kraft des Serums (Tabelle 3) zu verzeichnen, gegenüber Tabelle 2.

24 Stunden nach der Injektion hat nicht nur die Praecipitinreaction ihre ursprüngliche Stärke (Tabelle 1) erreicht, sondern sogar überschritten.

In Tabelle 5 zeigt sich wieder eine Abschwächung der Reaction. Ebenso in Tabelle 6.

Aus diesen Versuchen geht deutlich hervor, dass eine Bindung der Praecipitine im Tierkörper erfolgt. Bei jedem Versuch ist die Praecipitinreaction nach der Injection bedeutend herabgesetzt, um im Verlauf von einigen Stunden wieder eine Steigerung zu erfahren. In dem Albumin-Vorversuch ist die Abschwächung 2 Stunden nach der Injection am ausgesprochensten; 5 Stunden nach der Injektion ist schon wieder eine deutliche Zunahme zu konstatieren. Anders beim Globulinvorversuch. Zwar hat auch hier das Serum des zwei Stunden nach der Injection entnommenen Blutes am meisten an praecipitierender Kraft verloren; jedoch ist eine nennenswerte Zunahme der Reaction 5 Stunden nach der Injection noch nicht eingetreten. Beide Vorversuche haben das Gemeinsame, dass die ursprüngliche Stärke der Reaction vor der Injection innerhalb 5 Stunden nach der Injection noch nicht eingetreten ist.

Bei den Albumin- und Globulin-Versuchen hat das Serum 3 Stunden nach der Injection die maximale Abschwächung erfahren; 17 Stunden nach der Injection hat das Serum an praecipitierender Kraft zugenommen — in beiden Fällen. Beim Albuminversuch erreicht das Serum 24 Stunden nach der Injection dieselbe Stärke wie vor der Injection, als Ausdruck dafür, dass der Tierkörper, angespornt durch den Gehalt an körperfremdem Eiweiss, d i e i n A n s p r u c h g e n o m m e n e n P r a e z i p i t i n e durch n e u e e r s e t z t h a t, o d e r d a s s d i e P r a e c i p i t i n e w i e d e r f r e i geworden sind, nachdem sie das körperfremde Eiweissmolekül für den Körper unschädlich gemacht haben. Jedenfalls muss man, auch wenn letztere Annahme zutrifft, daneben doch noch eine Neubildung von Praecipitine annehmen, da ja die Reaction schliesslich stärker ist als im Anfang.

Beim Globulinversuch ist aber 24 Stunden nach der Injection die ursprüngliche Stärke der Reaction vor der Injection schon überschritten. Im Gegensatz dazu tritt beim Albuminversuch diese maximale Stärke erst 48 Stunden

nach der Injection ein. Zu dieser Zeit ist beim Globulinversuch schon wieder eine Abnahme zu verzeichnen, sodass jetzt die Reaction gleich der ursprünglichen ist. Weiterhin ist im Verlauf von 70 Stunden nach der Injection bei beiden Versuchen eine Abnahme der praecipitierenden Kraft eingetreten.

Versuch mit Globulinkaninchen II.

Das Versuchstier wurde immunisiert durch intraperitoniale Injectionen von 5—10 ccm einer 11% Globulinlösung in steigenden Dosen.

23. III. 04. Injection von 5 ccm Globulinlösung.
26. III. 04. „ „ 5 „ „
28. III. 04. „ „ 8 „ „
30. III. 04. „ „ 8 „ „
1. IV. 04. „ „ 8 „ „
5. IV. 04. „ „ 10 „ „
7. IV. 04. „ „ 10 „ „
9. IV. 04. „ „ 10 „ „

Nach Verlauf von etwa 2 Wochen wurde der beabsichtigte Versuch gemacht. Carotis und vena jugularis werden operativ freigelegt. Blutentnahme aus der Carotis. Dann erfolgt die Injection von 10 ccm einer 11% Globulinlösung in die vena Jugularis. ½ und 1 Std. nach der Injection wieder Blutentnahme aus der Carotis.

Tabelle 1.

Blutentnahme vor der Injection.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	½ Stunde	1 Stunde	2 Stunden	16 Stunden
3	0	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	Flocken
5	l. Tr.	st. Tr.	st. Tr.	Flock.	st. Bdstz.
7	l. Tr.	st. Tr.	Flock.	Bdstz.	st. Bdstz.

Tabelle 2.

Blutentnahme ½ Stunde nach der Injection von 10 ccm Globulin.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	½ Stunde	1 Stunde	2 Stunden	15 Stunden
3	0	0	0	0	l. Tr.
5	0	0	l. Tr.	l. Tr.	Flocken
7	0	l. Tr.	l. Tr.	Tr.	Flocken bis l. Bdstz.

Tabelle 3.

Blutentnahme 1 Stunde nach der Injection von 10 ccm Globulinlösung.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	½ Stunde	1 Stunde	2 Stunden	
3	0	0	0	0	l. Tr.
5	0	0	l. Tr.	Tr.	Tr.
7	0	l. Tr.	l. Tr.	Tr.	st. Tr.

Auch dieser Versuch beweist die Bindung der Praecipitins und Eiweiss im Tierkörper. Nach ½ Stunde ist schon eine deutliche Abnahme der Reaction eingetreten. Nach 1 Stunde ist die Abschwächung noch stärker geworden. Leider starb das Tier 1½ Stunden später, sodass weitere Versuche nicht angestellt werden konnten.

Versuch mit Albuminkaninchen II.

Das Tier wurde mit 1,5% Albuminlösung immunisiert.

23. III. 04. Intraperitoneal Injection von 5 ccm Albumin,
26. III. 04. „ „ „ 5 ccm „
28. III. 04. „ „ „ 8 ccm „

30. III. 04. Intraperitoneal Injection von 8 ccm Globulin,
1. IV. 04. „ „ „ 8 ccm „
5. IV. 04. „ „ „ 10 ccm „
7. IV. 04. „ „ „ 10 ccm „
9. IV. 04. „ „ „ 10 ccm „

Dieser Versuch wurde ausgeführt wie der vorige. Es wurde aus der freigelegten und eröffneten Carotis Blut entnommen; dann aber 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung in die vena jugularis injiciert. ½ Stunde später wieder Blutentnahme aus der Carotis; darauf Injection von 10 ccm Albuminlösung in die Jugularis. Blutentnahme ½ und 1½ sowie 8 Stunden nach der Albumininjection aus der Carotis.

Tabelle 1.

Blutentnahme vor der Injection.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	½ Stunde	1 Stunde	2 Stunden	16 Stunden
1	0	0	l. Tr.	Tr.	l. Bdstz.
3	l. Tr.	Flock.	Bdstz.	Bdstz.	st. Bdstz.
5	Tr.	st. Bdstz.	st. Bdstz.	st. Bdstz.	s. st. Bdstz.
7	st. Tr.	s. st. Bdstz.	s. st. Bdstz.	s. st. Bdstz.	s. st. Bdstz.

Tabelle 2.

Blutentnahme ½ Stunde nach der Kochsalzinjection.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	½ Stunde	1 Stunde	2 Stunden	15 Stunden
1	0	0	l. Tr.	l. Tr.	l. Bdstz.
3	l. Tr.	Flock.	Bdstz.	Bdstz.	st. Bdstz.
5	Tr.	st. Bdstz.	st. Bdstz.	st. Bdstz.	s. st. Bdstz.
7	st. Tr.	s. st. Bdstz.	s. st. Bdstz.	s. st. Bdstz.	s. st. Bdstz.

Wie zu erwarten war, ist keine Abnahme der Reaction nach der Injection von 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung eingetreten.

Tabelle 3.

Blutentnahme 1/2 Stunde nach der Albumininjection.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	15 Stunden
1	0	0	0	0	l. Tr.
3	0	l. Tr.	Tr.	Flock.	l. Bdstz.
5	0	l. Tr.	Tr.	l. Flock.	Bdstz.
7	l. Tr.	st. Tr.	Flock.	l. Bdstz.	Bdstz.

Tabelle 4.

Blutentnahme 1 Stunde nach der Injection von 10 ccm Albumin.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	17 Stunden
1	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	l. Tr.
5	0	l. Tr.	l. Tr.	Tr.	Tr.
7	l. Tr.	l. Tr.	Tr.	Tr.	Tr.

Dieser Versuch ist sehr unzweideutig ausgefallen. Es bestand eine sehr starke Praecipitinreaction. Nach der Kochsalzinjection keine Änderung hinsichtlich der Stärke der Reaction. Nach der Injection von 10 ccm Albuminlösung enorme Abschwächung. Das Serum des 1 Stunde

nach der Albumininjection entnommenen Blutes hat so geringe praecipitierende Kraft, dass sich in bei 17 stündiger Beobachtung im Reagenzglase auch nicht eine Spur von Niederschlag gebildet hat, sondern nur Trübung aufgetreten ist; vor und nach der Kochsalzinjection trat schon bei einem Tropfen Immunserumzusatz nach 17 Stunden, bei 3 Tropfen nach 1 Stunde, bei 5 Tropfen nach einer 1/2 Stunde ein deutlicher Niederschlag auf; und bei 7 Tropfen hatte sich nach 1/2 Stunde ein sehr starker Bodensatz abgesetzt. Das Serum des 8 Stunden nach der Injection entnommenen Blutes ging leider verloren und konnte nicht verwendet werden.

Versuch mit Globulinkaninchen I.

Auch mit diesem Tiere wird ein analoger Versuch angestellt.

Tabelle 1.

Blutentnahme vor der Injection.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	Am folgenden Morgen
1	0	0	l. Tr.	l. Tr.	l. Bdstz.
3	0	l. Tr.	l. Tr.	l. Tr.	l. Bdstz.
5	l. Tr.	Tr.	Tr.	st. Tr.	l. Bdstz.
7	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	Flocken u. g. Niederschlag	Bdstz.

Darauf Injection von 10 ccm Globulin Jugularis Blutentnahme 4 Stunden nach der Injection, 7 St., 24 St., 36 St. u. 60 St.

Tabelle 2.

Blutentnahme 4 Stunden nach der Injection.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	Am folgenden Morgen
1	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
5	0	0	l. Tr.	l. Tr.	l. Bdstz.
7	0	0 bis l. Tr.	Tr. etwas stärk. als bei 5 Tropf.	Tr. etwas stärker als bei 5	l. Bdstz.

Es besteht eine deutliche Abnahme der Reaction.

Tabelle 3.

Blutentnahme 7 Stunden nach der Injection.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	Am folgenden Morgen
1	0	0	0	l. Tr.	s. l. Bdstz.
3	0	l. Tr.	l. Tr.	Tr.	s. l. Bdstz.
5	l. Tr.	Tr.	Tr.	Tr.	l. Bdstz.
7	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	st. Tr.	l. Bdstz.

Die präcipit. Kraft des Serums hat zugenommen, jedoch den ursprünglichen Wert noch nicht wieder erreicht.

Tabelle 4.

Blutentnahme 24 Stunden nach der Injection.

Tropf.	sofort	½ Stunde	1 Stunde	2 Stunden	Am folgenden Morgen
1	0	l. Tr.	l. Tr.	l. Tr.	l. Bdstz.
3	l. Tr.	l. Tr.	l. Tr.	l. Tr.	l. Bdstz.
5	l. Tr.	Tr.	Tr.	st. Tr.	l. Bdstz.
7	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	leichter u. ganz grgr. Bdstz.	l. Bdstz.

Die Reaction ist fast die gleiche wie in Tabelle 1.

Tabelle 5.

Blutentnahme 36 Stunden nach der Injection.

Tropf.	sofort	½ Stunde	1 Stunde	2 Stunden	Am folgenden Morgen
3	0	Tr.	l. Tr.	Tr.	l. Bdstz.
5	l. Tr.	l. Tr.	Tr.	Flock.	Bdstz.

Tabelle 6.

Blutentnahme 60 Stunden nach der Injection.

Tropf.	sofort	½ Stunde	1 Stunde	2 Stunden	Am folgenden Morgen
3	l. Tr.	Tr.	Flock.	Bdstz.	Bdstz.
5	Tr.	Flock. u. Bdstz.	st. Bdstz.	st. Bdstz.	st. Bdstz.
7	st. Tr.	st. Bdstz.	st. Bdstz.	st. Bdstz.	st. Bdstz.

In Tabelle 6, also 60 Stunden nach der Injection ist eine ganz bedeutende Zunahme der präcipitierenden Kraft gegenüber Tabelle 1 zu verzeichnen.

Versuch mit dem Eiereiweisskaninchen.

29. III. 04. Intraperitoneale Injection von 5 ccm
Eiereiweiss in 10 ccm physiol. Na Cl-Lösng. 5 ccm
31. III. 04. „ „ „ „ „ „ „ 5 „
2. IV. 04. „ „ „ „ „ „ „ 5 „
5. IV. 04. „ „ „ „ „ „ „ 5 „
7. IV. 04. „ „ „ „ „ „ „ 5 „
9. IV. 04. „ „ „ „ „ „ „ 7 „
11. IV. 04. „ „ „ „ „ „ „ 7 „
13. IV. 04. „ „ „ „ „ „ „ 7 „

Nach ungefähr 8 Tagen Blutentnahme aus der Ohrvene. Das Serum wird in Dosen von 1—3—5 Tropfen 2 ccm einer 2% Eiereiweisslösung zugesetzt.

Tabelle 1.

Blutentnahme vor der Injection.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	½ Stunde	1 Stunde	2 Stunden	18 Stunden
1	0	l. Tr.	l. Tr.	l. Tr.	s. l. Tr.
3	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	Flock.	Bdstz.
5	Tr.	st. Tr.	Flock.	Bdstz.	st. Bdstz.

Nach der Blutentnahme werden 5 ccm Eiereiweisslösung, vermischt mit 8 ccm physiologischer Kochsalzlösung, intraperitoneal injiciert. Darauf Blutentnahme nach 3 Stunden, 5, 30 und 55 Stunden.

Tabelle 2.

Blutentnahme 3 Stunden nach der Injection von 5 ccm Eiereiweiss.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	18 Stunden
1	0	0	0	l. Tr.	Tr.
3	l. Tr.	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	l. Bdstz.
5	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	st. Tr.	Bdstz.

Tabelle 3.

Blutentnahme 5 Stunden nach der Injection von 5 ccm Eiereiweiss.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	16 Stunden
1	0	l. Tr.	l. Tr.	Tr.	st. Tr.
3	l. Tr.	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	l. Bdstz.
5	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	Flock.	st. Bdstz.

Tabelle 4.

Blutentnahme 30 Stunden nach Injection von 5 ccm Eiereiweiss.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	17 Stunden
1	0	l. Tr.	l. Tr.	Tr.	st. Tr.
3	l. Tr.	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	Bdstz.
5	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	st. Tr.	Bdstz.

Tabelle 5.

Blutentnahme 55 Stunden nach der Injection von 5 ccm Eiereiweiss.

Beobachtungszeit.

Tropf.	sofort	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	16 Stunden
1	0	l. Tr.	l. Tr.	l. Tr.	st. Tr.
3	0	l. Tr.	l. Tr.	Tr.	st. Tr.
5	l. Tr.	Tr.	st. Tr.	Flock.	Bdstz.

Auch bei diesem Versuche ist eine, wenn auch nicht sehr starke, doch immerhin deutliche Abschwächung der praecipitierenden Kraft nach der Injection nachzuweisen. Die ursprüngliche Intensität der Reaction vor der Injection wird während der Beobachtungszeit nicht erreicht. Dieses Verhalten ist umso auffallender, als auch andere Versuche mit Eiereiweiss, die ich hier nicht ausführlich anführen will, stets das gleiche Resultat ergaben.

Durch meine Versuche ist also erwiesen, dass auch im Tierkörper eine Bindung von Praecipitin und Eiweisskörper statthat, wenngleich ich mich nie von dem Zustandekommen eines Niederschlages überzeugen konnte. Bei einigen der vorher angeführten Untersuchungen wurden Blutpraeparate angefertigt. In denselben lies sich nie eine Praecipitatbildung auch nur in Form feinster Stäubchen nachweisen. Die intressante Frage, was aus der Bindung von Praecipitin und Eiweisskörper wird, bezw. auf welche Weise wir uns die Unschädlichmachung der fremden Eiweissmoleküls für den Organismus zu denken haben, konnte in der vorliegenden Arbeit nicht berührt werden. Ihrer endgültigen Lösung dürften vorerst noch ausserordentlich grosse Schwierigkeiten entgegenstehen.

Zum Schlusse habe ich die angenehme Pflicht, Herrn Geh.-Rat von Leube für die Übernahme des Referates sowie Herrn Privatdozenten Dr. Rostoski für die freundliche Überweisung des Themas meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Litteratur.

1. Rostoski, Zur Kenntnis der Praecipitine. Würzburg 1902.
2. Hamburger, Arteigenheit und Assimilation. Wien 1903.
3. L. Michaelis, Über Hemmungen der Praecipitinreaction. Braunschweig 1902. Beiträge zur chem. Physiologie und Pathologie Band IV Heft 1—2.
4. Oppenheimer, Über das Schicksal der mit Umgehung des 8 ccm Kanals eingeführter Eiweissstoffe. Beiträge zur chem. Physiologie und Pathologie Band IV Heft 7—8.
5. Eisenberg, Beiträge zur Kenntnis der specifischen Praecipitationsvorg. Bull trad, d. Seicuces Cracovie 1902.
6. L. Michaelis und Oppenheimer, Über Immunität gegen Eiweisskörper. Archiv für Anatomie und Physiologie. Phys. Abt. Suppl. 1902.

Lebenslauf.

Ich, Wilhelm Többen, preussischer Staatsangehörigkeit, bin geboren am 7. Okt. 1879 zu Herzlake (Hannover) als Sohn des Kaufmanns Hubert Többen in Herzlake. Nach Besuch der Elementarschule zu Herzlake u. des kgl. preussischen Gymnasiums zu Meppen erwarb ich mir am 17. Februar 1899 das Reifezeugnis in Meppen und bezog dann die Universitäten Tübingen, Kiel, München, Würzburg, Marburg, Würzburg. Der ärztlichen Staatsprüfung unterzog ich mich in Würzburg und wurde am 26. Mai als Arzt approbiert. Vorstehende Dissertation habe ich unter Leitung des Herrn Privatdozenten Dr. Rostoski verfasst.